

# VESIHALLITUKSEN MONISTESARJA

1980: 10

HYGIENIAN ILMENTÄJÄBAKTEERIT  
SAVON SELLU OY:N JÄTEVESISSÄ

Maarit Niemi

ja

Irmeli Taipalinen



V E S I H A L L I T U K S E N     M O N I S T E S A R J A

1980: 10

HYGIENIAN ILMENTÄJÄBAKTEERIT  
SAVON SELLU OY:N JÄTEVESISSÄ

Maarit Niemi  
ja  
Irmeli Taipalinen

TUTKIMUSRAPORTTI 25.4.1980

Maarit Niemi  
Vesitutkimustoimisto  
ja  
Irmeli Taipalinen  
Kuopion vesipiirin vesitoimisto

Vesihallitus  
Helsinki 1980

Tekijät ovat vastuussa julkaisun sisällöstä, eikä siihen voida vedota vesihallituksen virallisena kannanottona.

## SISÄLLYSLUETTELO

	Sivu
JOHDANTO	3
1 NÄYTTEET JA MENETELMÄT	3
1.1 Näytteet ja niiden fysikaaliset sekä kemialliset analyysit	3
1.2 Kokonaiskoliiformisten bakteerien määrittäminen	4
1.3 Fekaalisten koliiformisten bakteerien määrittäminen	4
1.4 Fekaalisten streptokokkien määrittäminen	4
1.5 Koliiformisten bakteerien tunnistus	4
1.6 Fekaalisten streptokokkien sero- loginen tyypitys	5
2. TULOKSET	5
3. TULOSTEN TARKASTELU	7
KIRJALLISUUS	10



## J O H D A N T O

Paljon orgaanista ainetta sisältävissä teollisuusjäteveksissä on todettu esiintyvän usein runsaasti fekaalisia koliformisia bakteereita. Tällaisia jätevesiä ovat paperi-, selluloosa-, tekstiili- ja eräissä sokeriteollisuuden prosesseissa syntyvät jätevedet (Vlassoff 1977).

Savon Sellu Oy:n jätevesissä on Kuopion vesipiirin vesitoimiston tutkimuksissa todettu esiintyvän fekaalisia koliformisia bakteereita. Tehdas sijaitsee Kuopion kaupungin vesilaitoksen raakaveden ottopaikan yläpuolella ja vesilaitoksen tarkkailussa on havaittu kohonneita indikaattoribakteerien pitoisuuksia raakavedessä.

Elokuussa 1979 Kuopion vesipiirin vesitoimiston ja vesitutkimustoimiston yhteistyönä selvitettiin Savon Sellu Oy:n jätevesien kokonaiskoliformisten bakteerien, fekaalisten koliformisten bakteerien ja fekaalisten streptokokkien pitoisuuksia ja lajistoa.

## 1. N Ä Y T T E E T JA M E N E T E L M Ä T

### 1.1 NÄYTTEET JA NIIDEN FYSIKAALISET SEKÄ KEMIAALLISET ANALYYSIT

Savon Sellu Oy:n prosessiin kuuluu puolikemiallisen massan ja aallotuskartongin valmistus. Kuitupitoiset prosessivedet johdetaan pystyselkeyttimen, vaakaselkeyttimen ja kahden rinnakkaisen jälkiselkeytysaltan kautta vesistöön. Pystyselkeyttimestä kuituliete palautetaan prosessiin ja vaakaselkeyttimeltä, johon johdetaan myös kuorimovesiä, liete poistetaan polttoon.

Vesinäytteet otettiin 28.8.1979 prosessista jälkiselkeytysaltaaseen tulevasta vedestä, siitä lähtevästä vedestä ja voimalaitoksen jäähdytysvedestä, johon tulevat myös saniteettivedet. Voimalavedet ja saniteettivedet johdetaan suoraan vesistöön. Näytteitä otettiin 2 rinnakkaista litran steriileihin kierrekorkkipulloihin. Vesinäytteiden

lämpötila mitattiin näytteenottohetkellä. Lisäksi näytteistä mitattiin laboratoriossa pH, sähkönjohtavuus ja kemiallinen hapenkulutus Scan menetelmällä (SFS standardit 3021, 3033 ja 3036).

## 1.2 KOKONAISKOLIFORMISTEN BAKTEERIEN MÄÄRITYS

Kokonaiskoliformiset bakteerit määritettiin LES Endo agarilla (Difco) kalvosuodatusmenetelmällä (SFS 3950, Sartorius 11406 AC kalvot). Maljoja inkuboitiin 1 d lämpötilassa 35<sup>0</sup>C (APHA 1975). Tyypillisiksi pesäkkeiksi katsottiin metallinkiiltoiset pesäkkeet.

## 1.3 FEKAALISTEN KOLIFORMISTEN BAKTEERIEN MÄÄRITYS

Fekaaliset koliformiset bakteerit määritettiin kalvosuodatusmenetelmällä (SFS 3950) käyttäen MFC-agaria ja inkubointia 1 d lämpötilassa 44<sup>0</sup>C vesihauteessa (SFS 4088). Näytteet suodatettiin Sartorius 11406 AC kalvoille.

## 1.4 FEKAALISTEN STREPTOKOKKIEN MÄÄRITYS

Fekaaliset streptokokit määritettiin kalvosuodatusmenetelmällä (SFS 3950), sekä m Enterococcus että KF Streptococcus agareilla (Difco; Juoma- ja talousvedentutkimusmenetelmät 1969, APHA 1975). Näytteet suodatettiin Sartorius 11406 AC kalvoille ja maljoja inkuboitiin 2 d lämpötilassa 35<sup>0</sup>C.

## 1.5 KOLIFORMISTEN BAKTEERIEN TUNNISTUS

Sekä kokonaiskoliformisia, että fekaalisia koliformisia bakteereita eristettiin kaikista kolmesta jätevesinäytteestä kumpiakin 20 kantaa, jotka muodostivat tyypillisiä pesäkkeitä. Kannat puhdistettiin tryptoni-hiivauute-glukoosi-natriumkloridi-agarilla kaksi kertaa ennen tunnistusta. Kantoja säilytettiin huoneenlämmössä lihauute-peptoni-agarissa pistoviljelminä. Kannat tunnistettiin API 20 E-testikittien avulla.



## 1.6 FEKAALISTEN STREPTOKOKKIEN SEROLOGINEN TYYPITYS

Molemmilta käytetyiltä valikoivilta alustoilta eristettiin kaikista näytteistä 10 kantaa, jotka muodostivat tyypillisiä pekäkkeitä. Kannat puhdistettiin Brain Heart Infusion agarilla (Difco) kaksi kertaa ennen serologista tutkimusta. Kannat säilytettiin pistoviljelminä 50% Brain Heart Infusion agarissa. Serologinen tyypitys tehtiin Streptex-kittien avulla (Wellcome Laboratories) Helsingin yliopiston mikrobiologian laitoksella.

## 2. T U L O K S E T

Jätevedet olivat lämpimiä. Prosessista jälkiselkeysaltaaseen tulevan veden ja selkeytysaltaasta lähtevän veden orgaanisen aineen määrä ja sähkönjohtavuus olivat suuria (taulukko 1). Kaikissa jätevesinäytteissä oli runsaasti kokonaiskoliformisia ja fekaalisia koliformisia bakteereita (taulukko 2 ja 3). Myös fekaalisten streptokokkien pitoisuudet olivat korkeita, vaikkakin alhaisempia kuin koliformisten bakteereiden pitoisuudet (taulukko 4). Fekaalisten koliformisten bakteerien määrä oli noin 65% kokonaiskoliformisten bakteerien määrästä kaikissa näytteissä.

Kokonaiskoliformisia bakteereita eristettiin 60 kpl, joista 10 kuoli ennen tunnistusta (taulukko 2). Tunnistetuista 50 kannasta 23 oli Escherichia coli ja 10 Klebsiella pneumoniae kantoja, 3 kantaa kuului Enterobacter- sukuun ja 5 kantaa jäi tunnistamatta. 60 fekaalisesta koliformisesta bakteerista kuoli 19 ennen tunnistusta (taulukko 3). Tunnistetuista 41 kannasta 34 oli Escherichia coli ja 4 Klebsiella pneumoniae ja 3 tunnistamatonta kantaa.

Jälkiselkeytysaltaaseen tulevasta vedestä ja selkeysaltaasta lähtevästä vedestä eristetyistä fekaalisista koliformisista bakteereista yksikään ei ollut Klebsiella pneumoniae, vaan kaikki tunnistetut kannat olivat Escherichia coli bakteereita. Sen sijaan näistä vesistä eristetyistä kokonaiskoliformisista bakteereista 16 oli Klebsiella pneumoniae ja 17 Escherichia coli bakteereita.

Taulukko 1. Savon Sellu Oy:n jätevesien fysikaaliset ja kemialliset ominaisuudet 29.8.1979.

	lämpö-tila	$\chi_{25}^{25}$ m <sup>-1</sup>	pH	KHT mg O <sub>2</sub> l <sup>-1</sup>
selkeytysaltaaseen tuleva	>30	225	5.0	2038
selkeytysaltaasta lähtevä	29	210	4.7	2212
voimalaitos	27	13	6.2	17

Taulukko 2. Kokonaiskoliformiset bakteerit Savon Sellu Oy:n jätevesissä 29.8.1979.

		eris-		kuol-	Klebsiella Enterobacter			tunnista-
	kpl/100ml	tetty	lut	E.coli	pneumoniae	cloacae	maton	
selkeytysaltaaseen tuleva	9960 000	20	2	6	11	1	0	
selkeytysaltaasta lähtevä	510 000	20	3	11	5	0	1	
voimalaitos	49 000	20	5	6	3	2	4	
		60	10	23	19	3	5	

Taulukko 3. Fekaaliset koliformiset bakteerit Savon Sellu Oy:n jätevesissä 29.8.1978.

		eris-	kuol-	Klebsiella tunnista-		
	kpl/100ml	tetty	lut	E.coli	pneumoniae	maton
selkeytysaltaaseen tuleva	6150 000	20	8	12	0	0
selkeytysaltaasta lähtevä	335 000	20	4	16	0	0
voimalaitos	31 500	20	7	6	4	3
		60	19	24	4	3

Taulukko 4. Fekaaliset streptokokit Savon Sellu Oy:n jätevesissä 29.8.1978.

	m Enterococcus agar			KF Streptococcus agar		
	kpl/100ml eristetty D-ryhmä			kpl/100ml eristetty D-ryhmä		
selkeytysaltaaseen tuleva	585 000	10	10	320 000	10	10
selkeytysaltaasta lähtevä	9 800	10	9	1 950	10	9
voimalaitos	15 400	10	10	9 850	10	10
		30	29		30	29

Fekaalisten streptokokkien määrä jäi KF Streptococcus agarilla määritettynä kaikissa näytteissä pienemmäksi, kuin m Enterococcus agarilla määritettynä (taulukko 4). Lähes kaikki tyypillisinä eristetyt kannat osoittautuivat serologisessa tutkimuksessa Lancefieldin D-ryhmään kuuluviksi.

### 3. T U L O S T E N T A R K A S T E L U

Tutkimuksessa selvitettiin bakteerien määriä ja lajistoa vain yhden näytteenottokerran perusteella, joten tässä esitetyt tulokset bakteeripitoisuuksista ja jälkiselkeytyksen tehosta bakteerien vähentämiseksi ovat vain suuntaa antavia. Myös lajisto voi vaihtua ajan kuluessa.

Jälkiselkeytykseen tulevassa vedessä todettiin  $10^5$  kokonaiskoliformista bakteeria millilitrassa. Selkeysaltaasta vesistöön lähtevässä vedessä oli kokonaiskoliformisia bakteereita jäljellä 5% tästä määrästä. Fekaalisia koliformisia bakteereita prosessista tulevassa vedessä oli noin  $6 \cdot 10^4 \text{ ml}^{-1}$ , josta määrästä 5% oli jäljellä vesistöön menevässä jätevedessä. Fekaalisia streptokokkeja prosessista tulevassa vedessä oli  $3.2 \cdot 10^3 \text{ kpl ml}^{-1}$ . Vesistöön menevässä jätevedessä oli 0,5...2% tästä määrästä jäljellä.

Kokonaiskoliformisina bakteereina eristetyistä kannoista, jotka olivat peräisin prosessista tulevasta jätevedestä ennen ja jälkeen puhdistuksen, lähes kaikki olivat Escherichia coli tai Klebsiella pneumoniae bakteereita siten, että kumpaakin oli yhtä paljon. Sen sijaan näistä näytteistä eristetyt fekaaliset koliformiset bakteerit, jotka tunnistettiin, olivat kaikki Escherichia coli bakteereita. Näissä näytteissä esiintyneet Klebsiella pneumoniae kannat eivät joko kyenneet kasvamaan  $44^{\circ}\text{C}$ :n inkubointilämpötilassa tai eivät muodostaneet laktoosista happoa näissä olosuhteissa.

Aikaisempien havaintojen mukaan 18...45% ympäristönäytteistä eristetyistä Klebsiella-kannoista kykenee kasvamaan  $44,5^{\circ}\text{C}$

lämpötilassa (Duncan ja Razzell 1972, Bagley ja Seidler 1975, Vlassoff 1977). Vaikka suurin osa selluloosa- ja paperiteollisuuden jätevesistä eristetyistä koliformisista bakteereista on ollut Klebsiella pneumoniae bakteereita, myös Escherichia coli bakteereita on tavattu (Sparell 1970, Bauer 1972, Huntley ym. 1976, Neilson ja Sparell 1976) Klebsiella-suvun suuri osuus selluloosa- ja paperitehtaiden jätevesien bakteereista voi johtua niiden kyvystä sitoa ilmakehän vapaata tyyppiä. Savon Sellu Oy:n prosessissa kuitenkin käytetään ammoniumsulfiittia keittokemikaalina, joten typen sidonta ei tuo näissä vesissä kilpailuetua. Tämä voi selittää Savon Sellu Oy:n vesissä todetun aikaisemmista havainnoista poikkeavan Escherichia coli - Klebsiella pneumoniae -suhteen.

Klebsiella-suvun bakteereiden esiintymistä teollisuusjätevesissä ja ympäristönäytteissä sekä niiden merkitystä ympäristössä on tarkasteltu Vlassoff (1977). Hän pitää tarpeellisina jatkotutkimuksia ympäristönäytteistä peräisin olevien Klebsiella-lajien kyvystä aiheuttaa tautia eläimille ja ihmisille. Hän toteaa Klebsiellan esiintymisen vesissä osoittavan joka tapauksessa veden heikentynyttä laatua. Myös Bagley ja Seidler (1977) korostavat Klebsiella pneumoniae-bakteereiden voivan aiheuttaa potentiaalisen terveydellisen vaaran ihmiselle ja eläimille. Knittelín ym. (1977) tutkimusten mukaan tautia aiheuttavat Klebsiella-kannat kykenevät lisääntymään steriilissä selluloosa jäteliemessä ja yksi tutkituista kolmesta kannasta säilytti virulenssin koko kokeen ajan (45 siirrostuskertaa).

Escherichia coli bakteerin lisääntyminen jätevesissä on haitallista jo sen vuoksi, että hygieenisen vesianalyysin käyttö edellyttää, että indikaattoribakteeri ei lisäännä ihmisen ja tasalämpöisten eläinten suoliston ulkopuolella. Myös Klebsiella pneumoniae bakteereiden lisääntyminen teollisuusjätevesissä haittaa hygieenistä vesianalyysiä, sillä osa näistä kannoista tulee esiin fekaalisina koliformisina bakteereina.

Fekaalisten streptokokkien esiintyminen selluloosatehtaan jätevesissä oli ilmiö, josta tiedossamme ei ole aikaisempia havaintoja. Määritystulos varmistettiin serologisen tyyppityksen avulla, jossa lähes kaikkien eristettyjen fekaalisten streptokokkien todettiin kuuluvan Lancefieldin D-ryhmään.

Sparell (1975) on tarkastellut paperin valmistuksessa esiintyviä bakteereita ja niiden muodostaman liman torjunnan mahdollisuuksia.

Ulosteista aiheutuvan saastutuksen ilmentäjäbakteereiden - kokonaiskoliformisten ja fekaalisten koliformisten bakteereiden sekä fekaalisten streptokokkien - lisääntyminen puunjalostusteollisuudessa on Suomessa merkityksellistä jo tämän teollisuuden alan laajuuden vuoksi. Näiden bakteereiden merkityksen selvittäminen edellyttää laajaa tutkimusta, jossa selvitetään bakteerimääriä ja lajistoa. Tärkeätä olisi myös tehdä epidemiologinen tutkimus, jossa selvitetään jätevesissä esiintyvien bakteereiden mahdollisia terveydellisiä haittoja. Tutkimus ilmentäjäbakteereiden esiintymisestä on käynnistynyt Helsingin yliopiston mikrobiologian laitoksella.

Paperi- ja sellutehtaita on ollut toiminnassa kauan ja ilmeisesti ne ovat jätevesiensä mukana laskoneet vesistöihin suuret määrät fekaalisia bakteereita ilman, että näiden aiheuttamia sairastumisia olisi todettu. Tämä antaa aiheen uskoa, että paperi- ja sellutehtaiden jätevesien bakteerit eivät aiheuta suurta terveydellistä riskiä. Kuitenkin viimeaikaiset tutkimukset antavat aiheetta jatkoselvityksiin.

## K I R J A L L I S U U S

- APHA 1975. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 1193 p. 14th Ed. Washington. D.C.
- Bagley, S.T. & R.J. Seidler 1977. Significance of faecal coliform positive Klebsiella. Appl. Environ. Microbiol. 33:1141-1148.
- Bauer, R.R. 1972. In: EPA Technical. Report 3, Environmental Protection Agency, 4-5 May, 1972 (Eds. Bordner, R.H. & B.J. Carroll) (Ref. Vlassoff 1977)
- Duncan, D.W. & W.E. Razzell 1972. Klebsiella biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce. Appl. Microbiol. 24:933-938
- Huntley, B.E., A.C. Jones, & V.J. Cabelli 1976. Klebsiella densities in Waters receiving wood pulp effluents. J. Wat. Pollut. Control Fed. 48:1766-1771
- Juoma- ja talousveden tutkimusmenetelmät 1969. Elintarviketutkijainseura ry. 169p. Helsinki
- Knittel, M.D., R.J. Seidler, C.Eby, & L.M. Cabe. 1977. Colonization of the botanical environment by Klebsiella isolates of pathogenic origin. Appl. Environ. Microbiol. 34:557-563
- Neilson, A.H. & L. Sparell 1976. Acetylene reduction (nitrogen fixation) by Enterobacteriaceae isolated from paper mill process waters. Appl. Environ. Microbiol. 32: 197-205
- Sparell, L. 1970. Termostabila coliforma bakterier från pappersmaskiners bakvattensystem. Svensk Papperstidning. 73:465-466
- Sparell, L. 1975. Förutsättningar för och kontroll av mikrobiella driftstörningar i processvatten. 21 p + appendix. Institutet för vatten- och luftvårdsforskning, B 242, Juni 1975
- Vlassoff, L.T. 1977. Klebsiella. p. 275-288. Bacterial indicators/Health hazards associated with water. Ed. by A.W. Hoadley & B.J. Dutka. American Society for Testing and Materials, STP 635



